

NASKAH PUBLIKASI

**EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK DAUN KEMUNTING
(*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) TERHADAP
HEPATOTOKSISITAS YANG DIINDUKSI
PARASETAMOL**



**ERLIN IRAWATI
NIM 111109059**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2014**

**LEMBAR PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI**


**EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK DAUN KEMUNTING
(*Rhodomirtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) TERHADAP
HEPATOTOKSISITAS YANG DIINDUKSI
PARASETAMOL**

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

ERLIN IRAWATI
NIM 111109059

DISETUJUI OLEH

PEMBIMBING PERTAMA


Indri Kusharyanti, M. Sc., Apt.
NIP. 19830311 200604 2 001


PEMBIMBING KEDUA


dr. Mitra Handini, M. Biomed
NIP. 19850908 200912 2 005


PENGUJI PERTAMA


dr. Pandu Indra Bangsawan, M. Kes
NIP. 19821126 201212 1 002

PENGUJI KEDUA


dr. M. In'am Ilmiawan, M. Biomed
NIP. 19791018 200604 1 002

**MENGETAHUI,
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA**


dr. Bambang Sri Nugroho, Sp. PD.
NIP. 19511218 197811 1 001

**EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK DAUN KEMUNTING
(*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) TERHADAP
HEPATOTOKSISITAS YANG DIINDUKSI
PARASETAMOL**

Erlin Irawati¹; Indri Kusharyanti²; Mitra Handini³

Intisari

Latar Belakang: Hati berperan dalam metabolisme sebagian besar obat sehingga hati menjadi target utama kerusakan akibat obat. Banyak obat yang telah dilaporkan dapat menyebabkan hepatotoksitas, salah satunya adalah parasetamol. Hepatotoksitas dapat dicegah dengan pemberian obat hepatoprotektif. Daun kemunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) berpotensi sebagai obat hepatoprotektif karena memiliki kandungan senyawa kimia yang bersifat antioksidan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek hepatoprotektif ekstrak daun kemunting terhadap hepatotoksitas parasetamol. **Metodologi:** Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Penelitian terhadap tikus Wistar jantan dilakukan selama 10 hari dan dibagi dalam 6 kelompok terdiri atas kelompok kontrol pelarut (CMC 0,5%), kontrol negatif (parasetamol 1000 mg/kgBB pada hari ke-3, 7, dan 10), kontrol positif (*silymarin* 200 mg/kgBB), ekstrak daun kemunting dosis 200, 400, dan 800 mg/kgBB. Tikus dikorbankan pada hari ke-11 untuk dilakukan pemeriksaan enzim transaminase (SGOT dan SGPT), dan mikroskopik hati. Data dianalisis menggunakan uji *One Way Anova*. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan terdapat peningkatan kadar SGOT dan SGPT serta kerusakan berupa degenerasi hidropik pada kelompok yang hanya mendapat perlakuan parasetamol. Kelompok kontrol positif (*silymarin*) dan kelompok perlakuan ekstrak daun kemunting menunjukkan sedikit perbaikan namun dengan uji statistik tidak berbeda signifikan ($p>0,05$). **Kesimpulan:** Efek hepatoprotektif ekstrak daun kemunting tidak adekuat terhadap hepatotoksitas parasetamol.

Kata kunci: *Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk., parasetamol, enzim transaminase, mikroskopik hati

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 2) Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 3) Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat

HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF KEMUNTING (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) LEAVES EXTRACT AGAINST PARACETAMOL-INDUCED HEPATOTOXICITY

Erlin Irawati¹; Indri Kusharyant²; Mitra Handini³

Abstract

Background: Liver has an important role in drug metabolism which cause liver as the main target of the damage caused by drugs. There are so many drugs that has been reported to cause hepatotoxicity, one of them is paracetamol. Hepatotoxicity can be prevented by hepatoprotective agents. Kemunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) leaves has potency as hepatoprotective agent because it has antioxidant biochemical content. **Objective:** The aim of this study was to determine hepatoprotective effect of Kemunting extract against paracetamol hepatotoxicity. **Methodology:** This research used maceration with ethanol 70% as the extraction method. The research was done in 10 days on male Wistar rats. The rats divided into 6 group; solvent control group (CMC 0,5%), negative control (paracetamol 1000 mg/kg bw on the third, seventh, and tenth day), positive control (silymarin 200 mg/kg bw), kemunting leaves extract doses 200, 400, and 800 mg/kg bw. The rats were sacrificed on the eleventh day to analyze transaminase enzymes (SGOT and SGPT) and liver microscopic. Data was analyzed using One Way Anova test. **Results:** There were elevations of SGOT and SGPT level with hydrophic degeneration in group given with paracetamol only. Positive control group (silymarin) and kemunting leaves extract group showed minimal recoveries but they were not significant in statistical analysis. **Conclusion:** The hepatoprotective effect of kemunting extract leaves is inadequate against paracetamol-induced hepatotoxicity.

Keyword: *Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk., paracetamol, biochemical analysis, liver microscopic

- 1) Medical Education Program, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Borneo.
- 2) Pharmacy Program, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Borneo.
- 3) Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Borneo.

PENDAHULUAN

Hati berperan dalam memetabolisme sebagian besar obat, sehingga menyebabkan hati menjadi target utama kerusakan akibat obat¹. Kerusakan pada hati yang berkaitan dengan terjadinya gangguan fungsi hati akibat paparan obat atau agen non-infeksius lainnya disebut hepatotoksisitas^{2,3}. Hepatotoksisitas dapat dicegah dengan pemberian obat hepatoprotektif⁴. Obat hepatoprotektif merupakan golongan agen terapeutik baik produk sintetik maupun alami yang melindungi hati dari kerusakan atau membantu dalam regenerasi sel hepatosit⁵.

Banyak obat yang telah dilaporkan dapat menyebabkan hepatotoksisitas. Obat-obat ini cenderung mengakibatkan terjadinya kerusakan hepatoseluler akut (*acute hepatocellular injury*), *acute cholestatic injury*, ataupun campuran keduanya, sedangkan pada kondisi kronis dapat mengakibatkan hepatitis kronis dan sirosis⁶. Hepatotoksisitas terkait obat merupakan penyebab utama gagal hati akut (*acute liver failure*) di Amerika Serikat dan Eropa, terutama akibat overdosis parasetamol⁷. Penelitian yang dilakukan pada 22 pusat layanan kesehatan tersier di Amerika Serikat menunjukkan bahwa persentase gagal hati akut terkait parasetamol meningkat selama periode penelitian yaitu dari 28% pada tahun 1998 menjadi 51% pada tahun 2003⁸. Lee pada tahun 2012 melaporkan bahwa 46% gagal hati akut di Amerika Serikat terjadi akibat overdosis parasetamol⁹. Jumlah kasus keracunan parasetamol di Indonesia, sejak tahun 2002-2005 yang dilaporkan ke Sentra Informasi Keracunan BPOM adalah sebesar 201 kasus¹⁰.

Parasetamol merupakan analgesik dan antipiretik yang tersedia sebagai obat bebas (*Over the Counter* [OTC]), baik sebagai produk tunggal atau kombinasi¹¹. Saat ini di Indonesia banyak obat yang mengandung parasetamol yang tersedia di pasaran dengan berbagai merek dagang¹². Penggunaan parasetamol dosis tinggi dapat menyebabkan nekrosis hati pada manusia dan juga hewan coba¹³.

Penggunaan obat yang bersifat hepatoprotektif sangat diperlukan untuk mengurangi efek hepatotoksik akibat parasetamol maupun obat lainnya. Kemunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) adalah tanaman asli Asia Tenggara dan tersebar pula di wilayah Indonesia^{14,15}. Daun kemunting mengandung steroid, terpenoid, alkaloid, fenol, flavonoid, tanin dan saponin¹⁶. Menurut penelitian yang dilakukan secara in vivo dan in vitro oleh Lavanya *et al.* pada tahun 2012, ekstrak aseton daun kemunting mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat¹⁷. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Patil pada tahun 2011 menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol (70%) daun kemunting tiap hari dapat memproteksi kerusakan hati akibat induksi obat antituberkulosis selama 45 hari pada tikus jantan Wistar¹⁸. Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini ingin mengetahui efek pemberian ekstrak etanol 70% daun kemunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) dalam jangka waktu yang lebih singkat (10 hari) dan menggunakan penginduksi parasetamol.

BAHAN DAN METODE

Alat

Alat yang digunakan adalah oven (Memmert[®]), bejana maserasi, batang pengaduk, corong, labu Erlenmeyer (Pyrex[®]), *beaker glass* (Pyrex[®]), labu ukur (Pyrex[®]), botol kaca gelap, mikropipet, pipet tetes, tabung reaksi, gelas ukur, *aluminium foil*, plastik *wrap*, wadah plastik, *rotary evaporator* (Heidolph[®]), *water bath* (Memmert[®]), cawan penguap, timbangan analitik (Ohaus[®]), lumpang, alu, sonde, timbangan hewan uji (Ohaus[®]), spuit, *minor set*, *microtube*, *microsentrifuge* (Tomy[®]), spektrofotometer (Minitelco[®]), cetakan besi, mikrotom (Microm[®]), *hot plate* (Thermo[®]), *tissue processor* (Thermo[®]), *object glass*, *cover glass*, kertas label, pot salep, mikroskop (Zeiss[®]).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun kemunting, etanol 70% (teknis), parasetamol murni dari PT. Brataco, CMC 0,5%, albendazole (Vermic[®]), aquades, kloroform, pereaksi Meyer, magnesium, HCl, FeCl₃ 1%, asam

asetat (CH_3COOH) glasial, H_2SO_4 , FeCl_3 5%, kit SGOT (Fluitest[®]), kit SGPT (Fluitest[®]), formalin 10%, zat warna Hematoksilin Eosin, xylol, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, alkohol absolut, aquades.

Desain Penelitian

Penelitian eksperimental sungguhan (*true experiment*) yang dilakukan secara *in vivo* dengan rancangan penelitian "*posttest-only control group design*".

Pembuatan Simplisia

Determinasi tanaman di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak membuktikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kemunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.). Bagian tanaman yang digunakan adalah daun, yang diambil dari Cagar Alam Mandor Kabupaten Landak, Kalimantan Barat pada pukul 09.00-12.00. Daun kemunting yang diambil yaitu yang tidak terlalu tua dan terlalu muda, kira-kira pada ruas ketiga hingga keenam pada ranting tanaman kemunting. Selanjutnya dilakukan sortasi basah, lalu daun dicuci, ditiriskan sebentar untuk menghilangkan air sisa pencucian, dilakukan pengubahan bentuk menjadi lebih kecil, dikeringkan pada oven dengan suhu 40°C selama 24 jam, dilakukan sortasi kering terhadap daun yang gosong atau rusak, lalu disimpan.

Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi. Simplisia daun kemunting dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 70%, direndam selama 2x24 jam (pelarut diganti tiap 24 jam) sambil sesekali diaduk. Maserat yang diperoleh dikumpulkan dan disaring kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary* evaporator dan *waterbath* hingga menjadi ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid, triterpenoid, dan tanin.

Pengujian efek hepatoprotektif

Hewan uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1 bulan. Saat aklimatisasi hewan uji diberikan albendazole 2x, yaitu pada minggu pertama dan kedua, 2 minggu kemudian dilakukan pengujian efek hepatoprotektif. Tujuan pemberian albendazole adalah untuk menghindari infeksi cacing. Selama masa aklimatisasi dan penelitian hewan uji diberikan makan dan minum *ad libitum*. Makanan yang diberikan berupa pelet dan jagung kering, sedangkan minumannya merupakan air yang sudah dimasak.

Pengujian efek hepatoprotektif ekstrak etanol 70% daun kemunting dilakukan terhadap tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang dibagi ke dalam 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol pelarut (CMC 0,5%), kontrol negatif (parasetamol 1000 mg/kgBB pada hari ke-3, 7, dan 10), kontrol positif (*silymarin* 200 mg/kgBB), ekstrak daun kemunting dosis I (200 mg/kgBB), ekstrak daun kemunting dosis II 400 mg/kgBB, dan ekstrak daun kemunting dosis III 800 mg/kgBB. Semua bahan diberikan secara oral dalam bentuk sediaan suspensi menggunakan CMC 0,5%.

Penelitian dilakukan selama 10 hari. Hewan uji dikorbankan pada hari ke-11 dengan dianestesi kloroform dan dislokasi leher. Darah untuk pemeriksaan biokimia (SGOT dan SGPT) diambil dari jantung, disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk diambil serumnya, kemudian diperiksa dengan metode spektrofotometri. Organ hati diambil dan dimasukkan ke dalam formalin 10%, dibuat menjadi preparat dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin, diamati dengan mikroskop pada perbesaran 400x.

Metode pengamatan preparat berdasarkan penelitian Swarayana *et al.* dengan sedikit modifikasi. Pemeriksaan dilakukan pada 10 lapang pandang per sediaan. Aspek yang dinilai pada masing-masing lapang

pandang yaitu diberikan skor 0 apabila kondisi sel normal; 1 apabila terdapat degenerasi hidropik/degenerasi lemak/nekrosis setempat; 2 apabila terdapat degenerasi hidropik/degenerasi lemak/nekrosis di beberapa tempat; 3 apabila terdapat degenerasi hidropik/degenerasi lemak/nekrosis menyeluruh¹⁹. Skor pada 10 lapang pandang tersebut dijumlahkan sehingga didapat derajat kerusakan hati. Hasil pemeriksaan biokimia berupa kadar SGOT dan SGPT serta pemeriksaan mikroskopik berupa total skor derajat kerusakan hati dianalisis dengan uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* jika terdapat perbedaan bermakna antar kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pemeriksaan Enzim Transaminase (SGOT dan SGPT)

Hasil pemeriksaan enzim transaminase berupa rata-rata kadar SGOT dan SGPT dapat dilihat pada tabel 1.

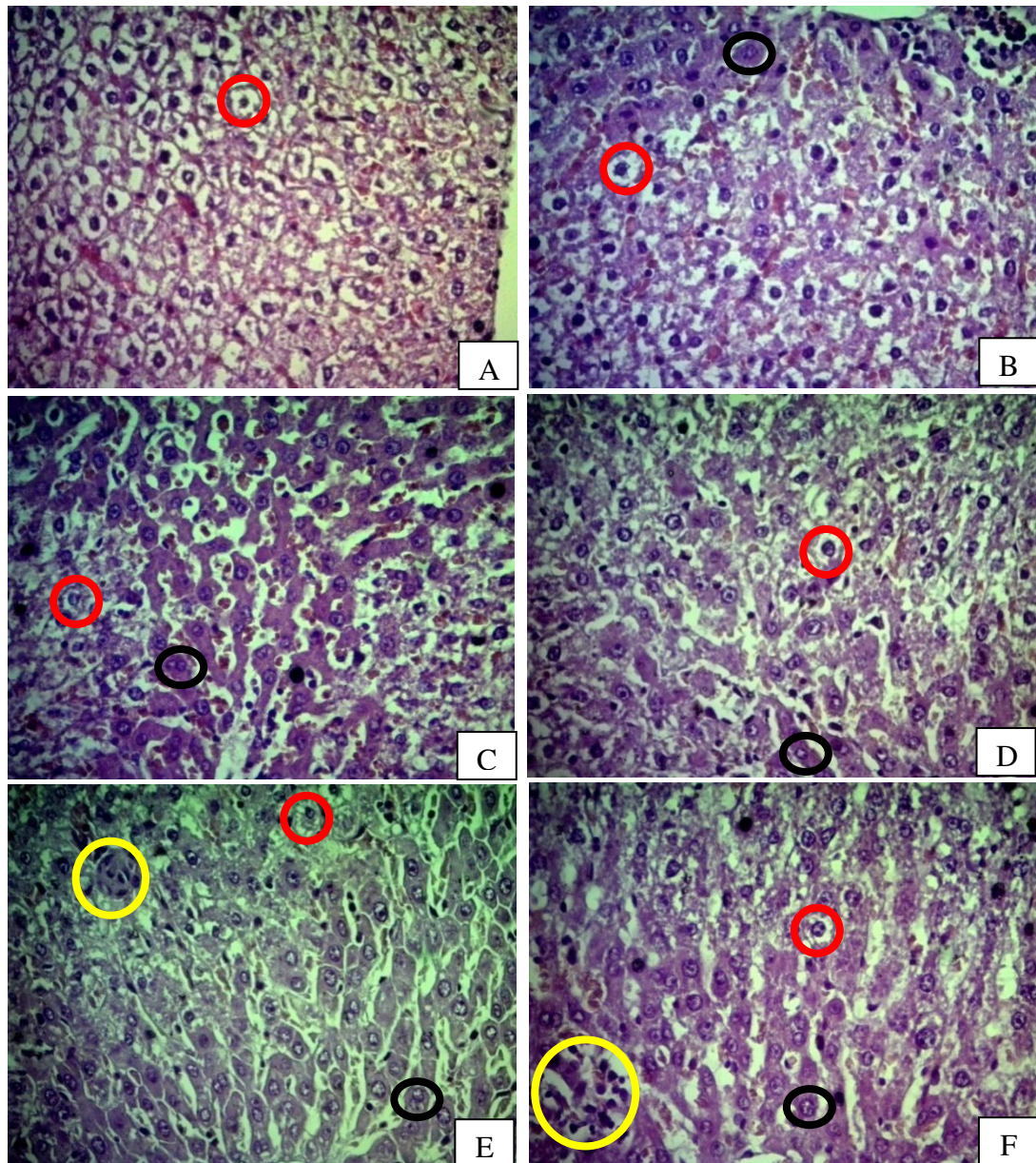
Tabel 1. Rataan kadar SGOT dan SGPT semua kelompok perlakuan

Kelompok	Kadar SGOT (U/L)	Kadar SGPT (U/L)
Kontrol pelarut (CMC 0,5% 1mL/200gBB)	280,75 ± 48,40 ^a	207,00 ± 85,98 ^a
Kontrol negatif (parasetamol 1000mg/kgBB 3x)	241,75 ± 67,50 ^a	189,25 ± 21,93 ^a
Kontrol positif (<i>Silymarin</i> 200mg/kgBB)	238,00 ± 47,95 ^a	184,75 ± 51,69 ^a
Dosis I ekstrak daun kemunting 200mg/kgBB	240,00 ± 12,52 ^a	156,50 ± 22,05 ^a
Dosis II ekstrak daun kemunting 400mg/kgBB	264,50 ± 119,31 ^a	175,25 ± 107,14 ^a
Dosis III ekstrak daun kemunting 800mg/kgBB	205,00 ± 39,64 ^a	115,00 ± 5,29 ^a

Keterangan: Kadar SGOT dan SGPT rata-rata (*mean*) ± standar deviasi (SD) (n=4). Nilai pada kolom yang sama diikuti huruf *superskrip* (a,b) yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (p>0,05).

Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Hati

Hasil pengamatan mikroskopik hati secara kualitatif pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Gambar mikroskopik hati tikus di sekitar vena sentralis, (A) kontrol CMC 0,5%; (B) parasetamol 1000mg/kgBB per oral 3x pemberian dalam 10 hari; (C) parasetamol + *silymarin* 200mg/kgBB; (D) parasetamol + ekstrak daun kemunting dosis I; (E) parasetamol + ekstrak daun kemunting dosis II; (F) parasetamol + ekstrak daun kemunting dosis III. Gambaran sel hepatosit normal ditunjukkan oleh lingkaran hitam (●). Terdapat gambaran degenerasi hidropik (●) pada semua kelompok; tidak terdapat gambaran degenerasi lemak, dan; terdapat gambaran nekrosis (●) pada kelompok ekstrak daun kemunting dosis II dan III (E dan F). Kelompok kontrol negatif parasetamol menunjukkan kerusakan yang dominan berupa degenerasi hidropik. Kelompok kontrol positif *silymarin*, ekstrak daun kemunting dosis II dan III menunjukkan berkurangnya keparahan kerusakan hati (pewarnaan H & E 400x).

Hasil pengamatan secara semikuantitatif derajat kerusakan hati dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rataan derajat kerusakan hati semua perlakuan

Kelompok	Derajat kerusakan hati
Kontrol pelarut (CMC 0,5% 1mL/200gBB)	24,75 ± 5,68 ^a
Kontrol negatif (parasetamol 1000mg/kgBB 3x)	18,25 ± 3,30 ^a
Kontrol positif (<i>Silymarin</i> 200mg/kgBB)	12,75 ± 10,21 ^a
Dosis I ekstrak daun kemunting 200mg/kgBB	19,00 ± 9,52 ^a
Dosis II ekstrak daun kemunting 400mg/kgBB	17,00 ± 3,65 ^a
Dosis III ekstrak daun kemunting 800mg/kgBB	11,25 ± 8,54 ^a

Keterangan : Total skoring derajat kerusakan hati rata-rata ± standar deviasi (SD) (n=4). Nilai pada kolom yang sama diikuti huruf *superskrip* (a,b) yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$).

Pembahasan

Hasil pengamatan secara kuantitatif menunjukkan terdapat peningkatan kadar SGOT dan SGPT yang tinggi di atas kadar normal pada semua kelompok perlakuan, termasuk kelompok kontrol pelarut yang hanya diberikan CMC 0,5% (tabel 1). Kadar SGOT dan SGPT normal pada tikus Wistar berturut-turut adalah 45,7-80,8 U/L dan 12-45 U/L²⁰. Kelompok kontrol normal dalam penelitian ini memiliki rerata kadar SGOT dan SGPT berturut-turut yaitu 280,75 ± 48,40 U/L dan 207,00 ± 85,98 U/L.

Peningkatan kadar SGOT dan SGPT pada kelompok kontrol pelarut pada penelitian ini diduga karena beberapa faktor, yaitu faktor makanan tinggi karbohidrat, stres, dan hewan uji yang tidak *specific pathogen free* (SPF). Penelitian yang dilakukan Purkins *et al.* pada tahun 2003 menyatakan bahwa peningkatan kadar SGOT dan SGPT dapat terjadi pada subjek penelitian sehat yang mendapat perlakuan dengan pemberian makanan *high carbohydrate high calorie* (HCHC). Peningkatan ini terjadi karena meningkatnya aliran masuk karbohidrat ke jalur glikolisis

dan jalur metabolisme karbohidrat lainnya²¹. Penelitian yang dilakukan oleh Mohale dan Chandewar pada tahun 2012 menyatakan bahwa kondisi stres pada tikus dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar SGOT dan SGPT. Peningkatan ini dapat terjadi akibat meningkatnya kortisol yang dapat menginduksi glukoneogenesis di hati. Selain itu kondisi stres juga dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif dan peroksidasi lipid yang dapat mengganggu permeabilitas membran sel. Salah satu pemicu stres pada tikus adalah terisolasinya tikus dalam kandang dalam jangka waktu yang lama pada saat penelitian berlangsung²². Faktor lain yang diduga mempengaruhi kadar SGOT dan SGPT pada kelompok kontrol pelarut adalah penggunaan hewan uji yang tidak *specific pathogen free* (SPF) sehingga kemungkinan kondisi hewan coba telah menunjukkan adanya kerusakan sebelum dilakukan perlakuan.

Rataan kadar SGOT $241,75 \pm 67,50$ U/L dan SGPT $189,25 \pm 21,93$ U/L pada kelompok kontrol negatif atau yang hanya diberi parasetamol saja menunjukkan angka yang lebih tinggi dibandingkan kadar normal. Peningkatan kadar enzim ini di serum mengindikasikan adanya kebocoran sel dan hilangnya integritas fungsional membran sel hati akibat toksisitas parasetamol. Tingginya kadar SGOT dibandingkan SGPT membuktikan bahwa tidak hanya sitosol yang terlibat dalam kerusakan, namun mitokondria juga terlibat sebab SGOT merupakan enzim yang terdapat baik pada sitosol maupun mitokondria²³.

Hasil yang diperlihatkan pada tabel 2 juga menunjukkan pemberian *silymarin* 200mg/kgBB (kontrol positif), ekstrak daun kemunting dosis I (200mg/kgBB), maupun ekstrak daun kemunting dosis III (800mg/kgBB) selama 10 hari terhadap kelompok yang diinduksi parasetamol dosis 1000mg/kgBB pada hari ke-3, 7, dan 10 berhasil menurunkan kadar SGOT pada ketiga kelompok tersebut dengan nilai rerata secara berturut-turut yaitu menjadi $238,00 \pm 47,95$ U/L pada kelompok kontrol positif; $240,00 \pm 12,52$ U/L pada kelompok ekstrak daun kemunting dosis I, dan;

205,00 \pm 39,64 U/L pada kelompok ekstrak daun kemunting dosis III. Sedangkan pada kelompok yang diinduksi parasetamol dosis 1000mg/kgBB pada hari ke-3, 7, dan 10 yang diiringi dengan pemberian ekstrak daun kemunting dosis II (400mg/kgBB) selama 10 hari menunjukkan terdapat sedikit peningkatan nilai rerata yaitu menjadi 264,50 \pm 119,31 U/L. Namun, secara statistik dengan menggunakan uji *One Way Anova*, baik penurunan maupun peningkatan kadar SGOT ini menunjukkan tidak berbeda signifikan ($p > 0.05$) jika dibandingkan dengan kadar SGOT kelompok kontrol negatif (241,75 \pm 67,50 U/L).

Selain SGOT, rata-rata kadar SGPT pada empat kelompok perlakuan juga mengalami penurunan jika dibandingkan dengan rata-rata kadar SGPT kelompok kontrol negatif (189,25 \pm 21,93 U/L), yaitu menjadi 184,75 \pm 51,69 U/L pada kelompok kontrol positif; 156,50 \pm 22,05 U/L pada kelompok ekstrak daun kemunting dosis I; 175,25 \pm 107,14 U/L pada kelompok ekstrak daun kemunting dosis II, dan; 115,00 \pm 5,29 U/L pada kelompok ekstrak daun kemunting dosis III. Namun, serupa dengan SGOT, penurunan rerata kadar SGPT ini juga menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ($p > 0.05$) secara statistik dengan menggunakan uji *One Way Anova*.

Hasil ini bertolak belakang dengan penelitian Patil tahun 2011 yang menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada rata-rata kadar SGOT dan SGPT pada kelompok yang diberi perlakuan *silymarin* 200mg/kgBB ($p < 0,001$), ekstrak daun kemunting dosis I 100mg/kgBB ($p < 0,01$), ekstrak daun kemunting dosis II 200mg/kgBB ($p < 0,01$), maupun ekstrak daun kemunting dosis III 400mg/kgBB ($p < 0,001$) terhadap rata-rata kadar SGOT dan SGPT pada kelompok yang hanya diberi toksikan berupa kombinasi isoniazid (7,5mg/kgBB) + rifampisin (10mg/kgBB) + pirazinamid (35mg/kgBB) dengan menggunakan uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan *Newman-Keuls Multiple Test*¹⁸.

Perbedaan hasil kedua penelitian ini diperkirakan karena jangka waktu pemberian perlakuan yang berbeda. Berdasarkan penelitian Patil pada

tahun 2011, pemberian perlakuan *silymarin* dan ekstrak daun kemunting yang dilakukan satu kali sehari selama 45 hari mampu memberikan perlindungan dari kerusakan hati akibat pemberian toksikan kombinasi isoniazid + rifampisin + pirazinamid yang juga dilakukan 1 kali sehari selama 45 hari¹⁸. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan peneliti, pemberian *silymarin* dan ekstrak daun kemunting yang dilakukan selama 10 hari kurang mampu memberikan perlindungan terhadap kerusakan hati akibat pemberian toksikan parasetamol yang dilakukan 3 kali pada masa perlakuan yaitu pada hari ke-3, 7, dan 10. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kemunting mampu memberikan perlindungan terhadap kerusakan hati apabila diberikan dalam jangka waktu lama dan kurang adekuat apabila diberikan dalam rentang waktu yang pendek.

Pengamatan secara kualitatif terhadap gambaran mikroskopik hati tikus pada gambar 1 menunjukkan bahwa induksi parasetamol 1000 mg/kgBB 3x dalam 10 hari yaitu di hari ke-3,7, dan 10 telah merusak jaringan hati tikus pada kelompok kontrol negatif yang ditunjukkan oleh gambaran sel-sel hepatosit yang dominan mengalami degenerasi hidropik. Degenerasi hidropik pada hepatosisitas akibat parasetamol ini terjadi akibat menurunnya jumlah ATP, menurunnya aktivitas pompa $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, meningkatnya Ca^{2+} , hilangnya kontrol membran plasma dan terganggunya jaringan filamen intermediet hepatosit^{24,25}. Hal ini mengakibatkan terganggunya keseimbangan ion dan cairan sel sehingga mengakibatkan terjadinya peningkatan air di dalam sel²⁶. Gambaran degenerasi hidropik yaitu berupa pembengkakan (*swelling*) hepatosit, vakuolisasi sitoplasma, penggumpalan (*clumping*) filamen intermediet, pembengkakan mitokondria, dan *blebbing* membran sel. Apabila menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin degenerasi hidropik tampak sebagai bentuk membran plasma yang membulat, sitoplasma jernih, dan gumpalan material sitoplasma eosinofilik yang sebenarnya merupakan gumpalan filamen intermediet²⁵. Gambaran ini berbeda dengan struktur mikroskopik hati normal berupa sel-sel hepatosit yang membentuk

lempeng tersusun radier dari vena sentralis. Bentuk sel hepatosit polihedral dengan sitoplasma asidofilik, nukleus sel besar, bulat dan vesikuler dengan nukleolus yang menonjol²⁷.

Hasil gambaran mikroskopik hati pada kelompok kontrol pelarut (kelompok yang hanya mendapatkan CMC 0,5%) menunjukkan gambaran yang sama dengan gambaran mikroskopik pada kelompok kontrol negatif, yaitu berupa degenerasi hidropik yang dominan. Namun, gambaran degenerasi hidropik pada kelompok kontrol pelarut menunjukkan gambaran yang masif, sedangkan pada kelompok kontrol negatif masih terdapat gambaran sel-sel hepatosit di sekitar vena sentralis.

Degenerasi hidropik pada hati dapat terjadi pada kondisi iskemia, kolestasis, dan pada berbagai bentuk toksisitas pada hati²⁵. Rowe *et al.* menunjukkan bahwa pemberian diet mengandung 5% CMC selama 201 hingga 250 hari pada tikus tidak memberikan perubahan bermakna pada gambaran histopatologi hati tikus tersebut²⁸. Konsentrasi CMC yang digunakan sebagai pelarut dalam penelitian ini di bawah 5%, yaitu 0,5%, yang di dalam banyak penelitian relatif aman terhadap hewan uji serta tidak mempengaruhi hasil penelitian.

Hasil gambaran mikroskopik hati pada kelompok kontrol positif (*silymarin* 200 mg/kgBB), ekstrak daun kemunting dosis I (200 mg/kgBB), ekstrak daun kemunting dosis II (400 mg/kgBB), dan ekstrak daun kemunting dosis III (800 mg/kgBB) menunjukkan gambaran degenerasi hidropik dan dominasi sel-sel hepatosit normal. Hal ini menunjukkan bahwa *silymarin* dan ekstrak daun kemunting memberikan perlindungan terhadap hepatotoksitas parasetamol. Gambar 1. juga menunjukkan adanya gambaran nekrosis sel hepatosit berupa karyoreksis (gambar 1 E) dan sel-sel hepatosit tanpa inti yang dikerumuni oleh sel-sel radang (gambar 1 F). Gambar 1 juga menunjukkan bahwa tidak terdapat gambaran degenerasi lemak pada semua perlakuan.

Tabel 2 menunjukkan rata-rata derajat kerusakan hati kelompok kontrol negatif parasetamol ($18,25 \pm 3,30$) tidak berbeda signifikan

($p > 0,05$) dengan kelompok kontrol pelarut CMC 0,5% ($24,75 \pm 5,68$) maupun kelompok kontrol positif yang mendapatkan *silymarin* ($12,75 \pm 10,21$), kelompok ekstrak daun kemunting dosis I ($19,00 \pm 9,52$), kelompok ekstrak daun kemunting dosis II ($17,00 \pm 3,65$) dan kelompok ekstrak daun kemunting dosis III ($11,25 \pm 8,54$). Meskipun demikian, kelompok kontrol positif yang diberikan *silymarin* menunjukkan derajat kerusakan yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif yang diberikan parasetamol saja. Begitu pula pada kelompok yang diberi perlakuan ekstrak daun kemunting dosis II dan III juga menunjukkan derajat kerusakan hati yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif parasetamol. Kelompok ekstrak daun kemunting dosis III merupakan kelompok yang memiliki derajat kerusakan hati yang paling rendah di antara semua kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa baik *silymarin* maupun ekstrak daun kemunting dapat memberikan perlindungan terhadap hepatotoksisitas parasetamol walaupun secara statistik hasil ini kurang bermakna.

Mekanisme perlindungan oleh ekstrak daun kemunting ditunjukkan oleh penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* yang dilakukan oleh Lavanya pada tahun 2012. Penelitian secara *in vitro* menyatakan bahwa ekstrak aseton daun kemunting memiliki kemampuan untuk menghambat pembentukan malondialdehid (MDA); memiliki kapasitas pereduksi yang kuat; memiliki kemampuan sebagai *chelating agent*. Sedangkan pada penelitian secara *in vivo* menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kemunting dapat mengembalikan antioksidan non enzimatis seperti GSH maupun antioksidan enzimatis seperti *superoxide dismutase* (SOD), katalase, dan glutathion peroksida pada mencit yang turun akibat induksi karbon tetraklorida (CCl_4)¹⁷.

Mekanisme perlindungan di atas diduga terjadi karena kandungan polifenol yang terkandung di dalam daun kemunting, di antaranya yaitu flavonoid dan tanin. Selain itu, menurut penelitian yang dilakukan oleh Hiranrat dan Mahabusarakam pada tahun 2008 menunjukkan bahwa pada

ekstrak daun kemunting dengan menggunakan pelarut aseton terdapat kandungan senyawa seperti rhodomyrtosones A-D, rhodomyrtone, combretol, 3,3_,4-tri-*O*-methylellagic acid, endoperoxide G3, (6R,7E,9R)-9-hydroxy-4,7-megastigmadien-3-one, dan α -tocopherol. Senyawa-senyawa ini diduga bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan, terutama senyawa fenolik seperti combretol, 3,3_,4-tri-*O*-methylellagic acid, (6R,7E,9R)-9-hydroxy-4,7-megastigmadien-3-one, dan α -tocopherol²⁹.

Flavonoid pada konsentrasi yang relatif rendah dapat menstimulasi transkripsi gen penting untuk sintesis GSH di sel. Efek kerja flavonoid pada regulasi gen terjadi melalui ikatan antara faktor transkripsi Nrf2 dengan situs AREs/EpREs, selain itu juga terdapat efek promotor γ GCSH³⁰. Stimulasi sintesis GSH hepatic dapat mencegah kerusakan sel akibat pemberian parasetamol³¹. Tanin dapat mereduksi secara langsung oksidan reaktif serta dapat pula bekerja sebagai *metal ions chelation*. Melalui peran ini tanin dapat mengganggu potensi redox beberapa logam seperti besi dan tembaga, atau mencegah keterlibatan logam tersebut pada reaksi redoks, sehingga dapat menghambat reaksi oksidatif yang disebabkan oleh logam melalui reaksi Fenton dan Haber Weiss³². Kandungan polifenol lainnya, yaitu α -tocopherol yang dapat melindungi sel terhadap peroksidasi lipid di membran sel. α -tocopherol mendonorkan satu elektronnya kepada *lipid peroxy radical* sehingga menjadi stabil³³.

Berdasarkan penelitian ini, hasil menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok yang mendapat perlakuan baik *silymarin* maupun ekstrak daun kemunting. Hal ini diduga karena waktu pemberian pada penelitian ini yang lebih pendek (10 hari) dibandingkan penelitian sebelumnya (45 hari) yang berhasil memberikan perbedaan bermakna dibandingkan kelompok negatif (diberi obat penginduksi kerusakan hati) dan perbedaan metode ekstraksi yang digunakan sehingga mempengaruhi perbedaan golongan senyawa yang diperoleh pada ekstrak.

Penelitian Patil pada tahun 2011 dengan sokletasi sebagai metode ekstraksi, menunjukkan hasil negatif untuk pemeriksaan saponin¹⁸. Hasil ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya busa pada pengocokan tabung yang di dalamnya terdapat ekstrak daun kemunting yang dilarutkan dalam air. Hasil tersebut berbeda dengan penelitian ini yang menggunakan maserasi sebagai metode ekstraksi. Hasil pada penelitian ini menunjukkan positif senyawa saponin pada ekstrak daun kemunting.

Saponin merupakan glikosida steroid atau triterpenoid yang memiliki ciri khas berbusa dan memiliki aktivitas hemolisis, umumnya diproduksi oleh tumbuhan. Pemberian saponin dapat memberikan berbagai efek biologis terhadap sistem tubuh hewan³⁴. Pemberian saponin dapat mengganggu permeabilitas membran plasma dan membran organel intraseluler pada sel hepatosit. Hal ini ditunjukkan oleh pemberian saponin 0,040 mg/ml yang dapat mengakibatkan membran plasma menjadi permeabel yang dinilai dengan keluarnya 50% dari total *lactate dehydrogenase* (LDH), yaitu suatu protein terlarut dalam sitosol. Konsentrasi saponin yang lebih tinggi juga dapat mengeluarkan protein di dalam organel sel, misalnya retikulum endoplasma dan kompleks golgi. Selain itu, pengamatan dengan mikroskop elektron menunjukkan terganggunya membran luar mitokondria pada sel hepatosit yang diberi saponin³⁵.

Adanya golongan senyawa saponin pada ekstrak daun kemunting diduga mempengaruhi hasil parameter biokimia pada penelitian ini yang menunjukkan terdapat sedikit penurunan kadar SGOT dan SGPT pada kelompok yang mendapatkan ekstrak daun kemunting tetapi tidak bermakna, karena di satu sisi kandungan saponin di dalamnya dapat mengganggu permeabilitas membran plasma dan membran organel sel sehingga protein-protein intraseluler dapat keluar dari sel. Keterbatasan yang ada dalam penelitian ini adalah tidak dilakukan pengamatan pada hati tikus sebelum perlakuan (*pre-test*) sehingga tidak diketahui kondisi

hati tikus tersebut apakah telah rusak ataukah masih normal dan sehat sebelum dilakukan perlakuan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa efek hepatoprotektif ekstrak etanol 70% daun kemunting tidak adekuat terhadap hepatotoksitas parasetamol.

Saran

1. Penelitian yang serupa perlu dilakukan dengan menambah waktu pemberian ekstrak yaitu lebih dari 10 hari dan dinaikkan variasi dosis ekstraknya.
2. Perlu dipertimbangkan penggunaan metode ekstraksi selain maserasi, misalnya sokletasi.
3. Dapat dilakukan penelitian efek hepatoprotektif dengan menggunakan bagian lain dari tanaman kemunting, misalnya buah kemunting.

DAFTAR PUSTAKA

1. David, S. and Hamilton, J P, 2010, Drug-Induced Liver Injury, *US Gastroenterology and Hepatology Review*, 6: 73-80.
2. Navarro, V J and Senior, J R, 2006, Current Concept Drug-Related Hepatotoxicity, *NEJM*, 354:731-739.
3. Singh, A.; Bhat, T K; Sharma, O P; 2011, Clinical Biochemistry of Hepatotoxicity, *J Clinic Toxicol*.
4. Roy, S D; Das, S; Shil, D; Dutta, K N; 2012, Herbal Hepatoprotective Agents: A Review, *WJPR*, 1 (2): 87-99.
5. Kashaw, V; Nema, A.K; Agarwal, A, 2011, Hepatoprotective Prospective of Herbal Drugs and Their Vesicular Carriers- A review, *IJRPB*, 2(2): 360-74.
6. Andrade, R J; Vega, M C L; Lucena, I; 2007, Drug-induced Hepatotoxicity, *Hepatology Rev.*, 4: 14-23.
7. Lee, W M, 2007, Acetaminophen Toxicity: Changing Perceptions on A Social/Medical Issue, *Hepatology*, 46 (4): 966-70.
8. Larson, A M; Polson, J.; Fontana, R J; Davern, T J; Lalani, E.; Hynan, L S *et al*, 2005, Acetaminophen-Induced Acute Liver Failure: Results of a United States Multicenter, Prospective Study, *Hepatology*, 42: 1364-72.
9. Lee, W M, 2012, Recent Developments in Acute Liver Failure, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 26 (1): 3-16.

10. Sari, P M, 2007, Pengaruh Pemberian Asetaminofen Berbagai Dosis Peroral terhadap Gambaran Histopatologi Tubulus Proksimal Ginjal Tikus Wistar, Universitas Diponegoro, Fakultas Kedokteran, Semarang, (Skripsi).
11. Budnitz, D S; Lovegrove, M C; Crosby, A E, 2011, Emergency Department Visits for Overdoses of Acetaminophen-Containing Products, *Am J Prev Med*, 40(6): 585-92.
12. IAI (Ikatan Apoteker Indonesia), 2012, ISO (Informasi Spesialite Obat) Indonesia Vol. 47 Tahun 2012-2013, PT. ISFI Penerbitan, Jakarta.
13. Adewusi, E A and Afolayan A J, 2010, A Review of Natural Products with Hepatoprotective Activity, *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (13): 1318-34.
14. Janick J. And Paul R.E., 2008, The Encyclopedia Of Fruits And Nuts, Cambridge University Press, UK.
15. Uji, T, 2007, Review: Keanekaragaman jenis Buah-Buahan Asli Indonesia dan Potensinya, *Biodiversitas*, 8 (2): 157-67.
16. Geetha, K M; Sridhar C.; Murugan, V.; 2010, Antioxidant and Gastroprotective Activities of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk., *International journal of PharmTech Research*, 2(1): 283-291.
17. Lavanya, G; Voravuthikunchai, Supayang P; Towatana, Nongporn H; 2012, Acetone Extract from *Rhodomyrtus tomentosa*: a Potent Natural Antioxidant, *Evidence-Based Complementary and alternative Medicine*.
18. Patil, V., 2011, Evaluation of Hepatoprotective and Antibacterial Activity of Aqueous Alcoholic (70%) Extract of *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk, Department of Pharmacology Dayananda Sagar College of Pharmacy, bangalore, (Disertasi).
19. Swarayana, I M I; Sudira, I W; Berata, I K, 2012, Perubahan Histopatologi Hati Mencit (*Mus Musculus*) yang Diberikan Ekstrak daun Ashitaba (*Angelica keiskei*), *Buletin Veteriner Udayana*, 4 (2): 119-125.
20. Arianti, R., 2012, Aktivitas Hepatoprotektor dan Toksisitas Akut Ekstrak Akar Alang-alang (*Imperata cylindrica*), Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bogor, (Skripsi).
21. Purkins, L; Love, E R; Eve, M D; Wooldridge, C L; Cowan, C; Smart, T S; Johnson, P J *et al.*, 2003, The Influence of Diet upon Liver Function Tests and Serum Lipids in Healthy Male Volunteers Resident in a Phase I Unit, *Br J Clin Pharmacol*, 57 (2): 199-208.
22. Mohale, D S and Chandewar A V, 2012, Effect of Social Isolation on Oxidative Stress and Transaminase Level, *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2 (15): 41-4.
23. Iyanda, A A and Adeniyi F A A, 2011, Biochemical and histologic Presentations of Female Wistar Rats administered with Different Doses of Paracetamol/Methionine, *Niger. J. Physiol. Sci.*, 26: 151-60.

24. Kulkarni, K S; Rafiq, M; Gopumandhavan, S; Venkataranganna, M V; Madhumathi, B G; Mitra, S K, 2002, Protective effect of Liv.52 on Na⁺-K⁺-ATPase Activity in Paracetamol-induced Hepatotoxicity, *Medicine Update*, 10 (5): 53-6.
25. Burt, A D; Portmann, B C; Ferrel, L D; 2012, MacSween's Pathology of the Liver, Ed-6, Elsevier, China.
26. Abdelhalim M A K and Jarrar, B M, 2011, Gold Nanoparticles Induced Cloudy Swelling ti Hydrophic Degeneration, Cytoplasmic Hyaline Vacuolation, Polymorphism, Binucleation, Karyopyknosis, Karyolysis, Karyorrhexis and Necrosis in the Liver, *Lipid in Health and Disease*, 10 (166): 1-6.
27. Hassan, N S; Ahmed, H F; Elshaer, M A, 2004, The Modulatory Effect of Some Antioxidants on Hepatocytes of Adriamycin treated Rats: Light and Electron Microscopic Study, *The Egypt J Histol*, 27 (2): 317-38.
28. World Health Organization (WHO), 1974, Toxicological Evaluation of Some Food Additives including Anticaking Agents, Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers, and Thickening Agents, WHO, Geneva.
29. Hiranrat, A and Mahabusarakam, W, 2008, New Acylphloroglucinols from Leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*, *Tetrahedron*, 64: 11193-97.
30. Moskaug, J; Carlsen, H; Myhrstad, M C; Blomhoff, R; 2005, Polyphenols and Glutathione Synthesis Regulation, *Am J Clin Nutr*, 81: 277S-283S.
31. Sumioka, I.; Matsura, T.; Yamada, K., 2004, Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: Still an Important Issue, *Yonago Acta Medica*, 47: 17-28.
32. Al-Salih, R M H, 2010, Clinical Experimental Evidence: Synergistic Effect of Gallic Acid and Tannic Acid as Antidiabetic and Antioxidant Agents, *TQMJ*, 4 (4): 109-19.
33. Smith, C; Marks, A D; Lieberman, M, 2006, Marks' Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach, Second Edition, Lippincott Williams and Wilkins.
34. Francis, G; Kerem, Z; Makkar, H P S; Becker, K, 2002, The Biological Action of Saponins in Animal Systems: A Review, *British Journal of Nutrition*, 88: 587-605.
35. Wassler, M; Jonasson, I; Persson, R; Fries E, Differential Permeabilization of Membranes by Saponin Treatment of Isolated Rat Hepatocyte, *Biochem. J.*, 247: 407-15.

Lampiran

Surat Keterangan Lolos Kaji Etik

Nomor : 073 /ETIK/MRU/2013

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL – CLEARANCE

Bagian Etika Penelitian Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul :

Ethics of Medicine Research Unit of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled :

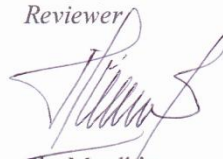
Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa* (Aiton) Hassk) terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol

Peneliti utama : Erlin Irawati
Name of the principal investigator I11109059

Nama institusi : Program Studi Pendidikan Kedokteran
Name of institution Fakultas Kedokteran Untan

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

Pontianak, 05 Oktober 2013
Pengkaji
Reviewer



dr. Mardhiah
NIP. 19850417 201012 2 0048